文章编号:1001-5078(2017)10-1210-06　　·激光应用技术·

基于 Hough 变换处理方法的光镊光阱刚度标定

李成宇,张玉灵,周哲海
(光电测试技术北京市重点实验室,北京信息科技大学,北京 100192)

摘　要:光阱刚度是描述光镊力学特性的一个重要指标,其标定的精确度直接决定了光镊测力的精确度。研究了一种基于 Hough 变换处理方法的光阱刚度标定方法。首先,介绍了基于均方位移法利用 Hough 变换求解位移实现刚度标定的基本原理;然后,搭建了光镊系统,进行了可行性分析。测量结果与传统的 CCD 相关算法进行了比较,当光的放大倍数为 120 时,Hough 变换处理法标定的光阱刚度平均值为 1.604 ±0.02,CCD 相关算法标定的光阱刚度平均值为 1.781 ±0.05,两种方法标定的结果基本相同。研究结果表明,Hough 变化处理法具有一定的稳定性和可靠性,是标定光阱刚度可选择的方法之一。

关键词:光镊;光阱刚度;Hough 变换法;CCD 相关算法;均方位移法
中图分类号:TN249;TH744　　**文献标识码:**A　　**DOI:**10.3969/j.issn.1001-5078.2017.10.004

Calibration of optical trap stiffness in optical tweezers based on Hough transform

LI Cheng-yu, ZHANG Yu-ling, ZHOU Zhe-hai
(Beijing Key Laboratory for Optoelectronic Measurement Technology,
Beijing Information Science and Technology University, Beijing 100192, China)

Abstract: The stiffness of optical trap is an important parameter to describe the mechanical properties of the optical tweezers, whose measurement accuracy is almost determined by the calibration accuracy of trap stiffness. A calibration method of optical trap stiffness based on Hough transform is proposed. Firstly, the basic principle to solve the displacement and calibrate the stiffness based on the mean square displacement method by using the Hough transform was introduced. Then, the optical tweezers system was built, and a feasibility analysis was carried out. The measured results are compared with those using the traditional CCD correlation algorithm. When the optical magnification is 120, and the average value of the stiffness measured by the Hough transform method is, and that using CCD correlation algorithm is about . The results are almost the same. The research results show that the Hough method is stable and reliable, and can be used to calibrate the optical trap stiffness.

Key words: optical tweezers; optical trap stiffness; Hough transform; CCD correlation algorithm; mean square displacement method

1　引　言

光镊技术是激光技术领域的一项重大发明,其利用一束高度汇聚的激光束所形成的三维势阱来捕获和操控微小粒子,已成为微纳米微粒操控

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 61108047;No. 61475021);北京市自然科学基金项目(No. 4152015);北京信息科技大学勤信人才培育计划项目(No. QXTCPA201701)资助。
作者简介:李成宇(1993 -),女,硕士研究生,研究方向为细胞的捕获与超分辨显微成像技术。E-mail:18811566011@163.com
通讯作者:周哲海(1978 -),男,工学博士,副教授,研究方向为光电检测技术,生物医学检测技术及仪器,微光学器件与系统。E-mail:zhouzhehai@bistu.edu.cn
收稿日期:2017-03-07;**修订日期:**2017-04-12

和皮牛力测量的重要工具。光镊技术的出现不仅丰富和推进了光学领域的发展，也为光学与其他学科的融合架起了一座桥梁[1]。细胞是生命活动的基本单位，而对基因、蛋白质、细胞的研究是研究人体生命过程的关键和基础。基于光镊的细胞操控技术，无疑为细胞以及大分子的研究带来了不可替代的作用。

光镊作为微小力的探针，在测量微小力时，光阱刚度的标定是衡量光镊力学特性的重要指标。由光镊的力学原理可知，光阱刚度的标定与捕获粒子偏离光阱中心的位移有关。因此，粒子位移的精确度决定了光阱刚度的准确性。目前常用的测量微粒横向位移的方法有 CCD 图像法和四象限探测器法，其中 CCD 相关法对粒子图像的处理通常采用的是二次曲线拟合法和灰度重心法，一般情况下测量精度可以保证在 1 nm 左右，但此方法也会受到曝光时间和帧频的一些限制，会忽略掉微粒运动过程中的高频信号，因此只适合用来测量固定微粒的位置和受限运动的平均位置[2]；四象限探测器法测量精度在 2 ~ 5 nm，测量精度相比 CCD 相关算法要低，此方法只是采集和利用的四个信号，它们是各个象限的平均信号，信息量比 CCD 采集的少。

本文介绍了一种基于 Hough 变换图像处理法的光镊光阱刚度标定方法，此方法计算原理简单且不受检测物体本身形状的限制，即使是不规则的物体也可以对其边缘轮廓进行准确提取，减少噪声的干扰，从而减少目标的错误识别，为提高光阱刚度的标定精度提供了一种可能。

2　实验原理

2.1　光阱刚度的基本概念

光镊在捕获粒子时，在不受其他外力的作用下粒子会在光阱中心做受限的布朗运动，其运动趋势近似一个弹簧振子，通常用公式(1)来表示：

$$\vec{F} = -K \cdot \vec{X} \tag{1}$$

其中，X 为粒子偏离光阱中心时的位移；比例系数 K 称之为光阱刚度；F 为粒子偏离光阱中心时所受到的光阱的回复力。在相同的实验条件下，对于确定的光镊系统，光阱刚度就表征了光镊在该条件下的捕获性质[3]。对于一个光阱刚度已知的光镊系统，可以通过对光镊中捕获粒子的位移进行准确测量，来确定该粒子所受外力的大小。因此，作为描述光镊力学特性的重要指标——光阱刚度的测量，一直备受人们的关注。

均方位移法是标定光阱刚度的常用方法之一，其测量精度高依赖参数少，常常是研究者们首选的方法。均方位移是利用微粒在光阱中心做无规则热运动的现象，通过大量实验测量粒子的位置分布，统计粒子的均方位移，以此得到光阱刚度[3]。均方位移法标定光阱刚度的公式为：

$$K = K_B T \cdot \langle x^2 \rangle^{-1} \tag{2}$$

其中，$\langle x^2 \rangle$ 为粒子位置的均方值；K_B 为玻尔兹曼常数；T 为溶液的热力学温度。通过对均方位移法标定原理的分析，发现粒子偏离光阱中心的位移是影响光阱刚度标定的重要因素。因此，粒子位移的准确测量决定了光阱刚度测量的精度。

2.2　Hough 变换简介

Hough 变换法是图像处理中识别几何图形的常用方法，主要通过直角坐标系和极坐标系之间的变换来检测直线和曲线，把图像空间中的每一个边缘像素点映射到参数空间，进行边缘累积，最后形成峰值点。Hough 变换处理法最大的特点在于它不受检测物体本身形状的限制，即使是不规则的物体也可以对其边缘轮廓进行准确提取，不仅具有抗噪、不怕遮挡的优点，还具有抗断点、受变形影响小的特点。

Hough 变换最初是对直线进行检测，其实质是对图像进行坐标变换把图像空间中的直线映射到参数空间成为一个点，然后在参数空间中对点进行描述，使结果更易识别和检测[4]。如图 1(a)所示，假设图像空间中存在一条直线：

$$y = ax + b \tag{3}$$

其中，a 是斜率；b 是截距。在直线上随机选取两个点 $A(x_i, y_i)$ 和 $B(x_j, y_j)$，将 A 点带入方程(3)中得：

$$y_i = ax_i + b \tag{4}$$

将其转换到参数空间(a，b 平面)，公式(4)可以写成：

$$b = -ax_i + y_i \tag{5}$$

同理，像空间的点 $B(x_j, y_j)$ 也对应参数空间的一条直线。这条线和与 (x_i, y_i) 相关的线相交于点 (a', b')，其中，a' 是斜率，b' 是在 xy 平面上包含点 (x_i, y_i) 和 (x_j, y_j) 的线的截距[5]，如图 1(b)所示。

实质上,点(a',b')就是 A ,B 两点所确定的直线。因此,我们可以确定,像空间的一条直线对应参数空间的一个点,相反的,参数空间的一个点确定像空间的一条直线。

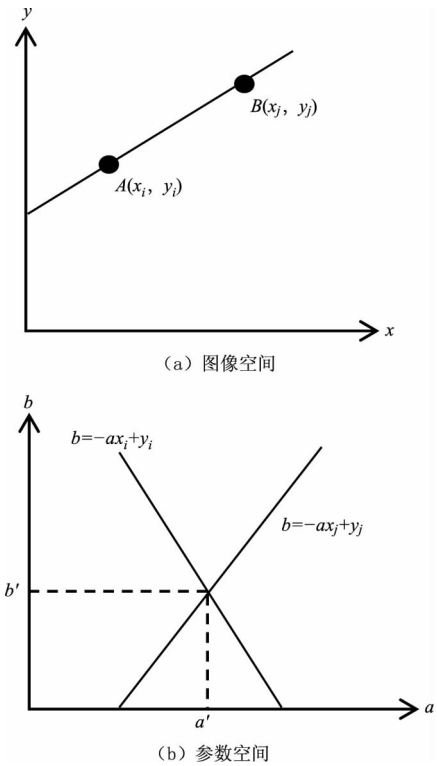

图 1 霍夫变换原理

Fig. 1 The principle of Hough transform

在此原理的基础上,Hough 变换逐渐把直线检测扩展到圆、椭圆甚至不规则的几何图形上。由于实验的标本为球形的熔融石英珠粒子,所以本文主要探讨的是 Hough 变换的圆形识别,后面将对实验中粒子图像的处理流程进行详细介绍。

3 实验结果及分析

3.1 光镊系统

图 2 是搭建的光镊系统的结构示意图,主要由捕获光源、扩束系统、捕获系统及成像系统几个部分构成。其中,捕获光源是一个波长为 975 nm、最大功率为 380 mW 的近红外激光器。从捕获光源发射的激光经过扩束系统进行准直扩束,然后进入油浸物镜进行汇聚捕获样品。用一个 2.6 mW 的 LED 灯作为照明光源,照射被捕获样品,并在 CCD 中成像。实验中,采用的样品是半径为 1.03 μm 的熔融石英珠粒子,将其置于 400 μm 内置通道的塑料滑块中,并固定在三维压电载物台上,通过控制压电平台的运动带动液体环境运动,从而实现粒子的被动操作。

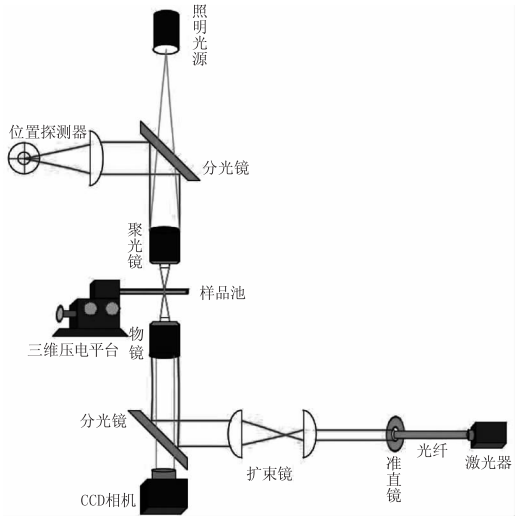

图 2 光镊系统结构示意图

Fig. 2 System structure diagram of optical tweezers

3.2 Hough 变换求粒子位移

由公式(2)可知,光阱刚度 K 与粒子的均方位移 $\langle x^2 \rangle$ 成比例,即粒子偏离光阱中心的位移成为光阱刚度测量的重要因素。下面就对 Hough 变换处理法计算粒子的位移及在此基础上标定光阱刚度做详细介绍。

用光镊系统捕获熔融石英珠粒子,使其被束缚在光阱中心,通过 CCD 采集一定时间内粒子的运动图像。如图 3 所示,十字线表示光阱中心所在位置,根据粒子随时间的位置变化可以看出当粒子不受其他外力作用时,会在光阱中心做受限的布朗运动,利用 Hough 变换的原理对所采集到的粒子图片进行处理计算,具体的处理流程如图 4 所示。

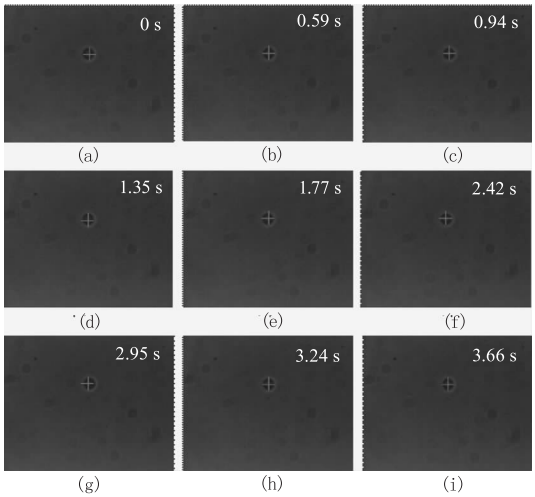

图 3 实验观测获得的粒子在光阱中心做受限布朗运动的时序图

Fig. 3 The time series of the limited Brown motion of the particles obtained from the experimental observations

首先,对所采集到的粒子的图像进行中值滤波,

然后用 Canny 算子进行边缘提取并二值化;构造一个边缘点集 D,初始化圆的参数集 $X=0$, $Y=0$, $R=0$,循环次数 $C=1$[6];从 D 中随机选取 3 个点,确定 2 条直线,分别取这两条直线的垂直平分线,两条垂直平分线的交点即为这三个点所确定的圆的圆心;由于随机噪声和复杂背景的干扰,随机采点检测圆会产生大量的无效累积[6],所以要对所得到的圆进一步判断,判断的依据是如果在随机采样中有 2 到 3 次所得的圆的参数相同,那么就判定这个圆为真圆。如果不是则重新取点,重复上述步骤,最后,输出圆的参数;当循环次数达到一定数目时停止循环,对圆的参数值取平均得出粒子的圆心和半径。本实验中仅考虑,粒子在 x 轴方向的位移,则粒子的位移只与圆心的横坐标有关。假设我们处理粒子图像共 n 张,则粒子的均方位移由公式(6)求得:

$$\langle x^2 \rangle = \overline{x_n^2} - \overline{x_n}^2 \tag{6}$$

其中, $\overline{x_n^2}$ 为共 n 张图片粒子的横坐标的平方的均值; $\overline{x_n}^2$ 为共 n 张图片粒子横坐标的均值的平方。

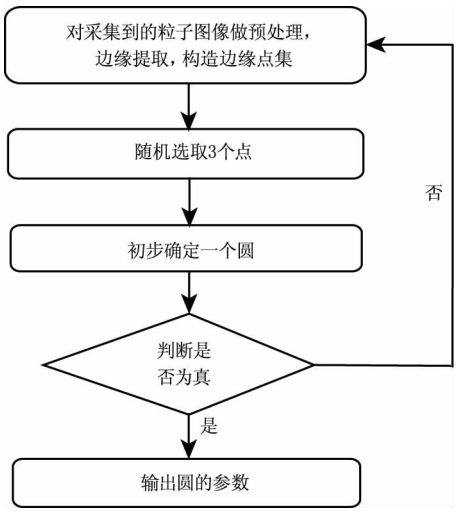

图 4　Hough 变换检测圆流程

Fig. 4 Hough transform detection circle diagram

3.3　光阱刚度标定及分析

根据均方位移法,通过计算位移的均方根获得均方位移值,并测得实验时样品所在溶液的温度,即可得到光阱刚度值[7]。由于 CCD 采集到的数据是像素级,在求出粒子的均方位移后还要把像素级转换成长度级,且在实验的过程中,光的功率会有一定的损耗,因此我们图像中采集到的粒子与实际的粒子大小是不同的,还需要对所得粒子的数据除以光的放大倍数 D,才是粒子实际的数据信息。本实验中光的放大倍数由公式(7)求得:

$$D = \frac{R_{测量}}{R_{真实}} \tag{7}$$

其中, $R_{测量}$ 表示粒子半径的测量值; $R_{真实}$ 表示实际的粒子半径已知为 1.03 μm,最后实验中测得光的放大倍数 $D=120$。

实验中测得的溶液的温度为 23.8 ℃,则根据公式(2)即可求得此实验条件下光镊的光阱刚度。为了证明 Hough 变换处理法标定光阱刚度的可行性,本文把此方法所得到的光阱刚度值与 CCD 相关算法标定光阱刚度值进行比较,如表 1 所示。

表 1　比较 Hough 变换和 CCD 相关算法得到的光阱刚度

Tab. 1 Comparison of optical trap stiffness with Hough transform and CCD correlation algorithm

次数	Hough 变换	CCD 相关算法
1	1.3825	1.5138
2	1.5622	1.7063
3	1.6217	1.7716
4	1.8225	2.2025
5	1.6261	1.7101

对上述 5 组数据分析计算可得,Hough 变换处理法标定的光阱刚度平均值及涨落为 1.604 ± 0.02,CCD 相关算法标定的光阱刚度平均值及涨落为 1.781 ± 0.05,且存在 9% 的相对误差。此数据表明 Hough 变换处理法标定光阱刚度值涨幅只有 2%,证明此方法本身是具有稳定性和可靠性的。与 CCD 相关算法相比虽存在 9% 的相对误差,但很大程度与两种测量方法本身的自然条件有关。

对光阱刚度的标定精度产生影响的客观因素有:1)系统光放大倍数,由上面的叙述可知光学系统参数——光放大倍数是影响光阱刚度标定的重要参数,其大小决定着被测粒子的实际位移值,通过公式(2)可以看出粒子的位移值又直接影响着光阱刚度的标定;2)CCD 像元数,众所周知对于感光元件来说影响成像质量好坏的重要因素之一便是感光元件的面积大小,CCD 的像元数越多,成像面积越大,能更多的记录图像的细节,各像素之间的干扰减小,

成像质量则越好,图像处理后的信息则越精确,得到的光阱刚度值也会更准确;3)实验环境温度,同样由公式(2)可知光阱刚度标定还与实验溶液的绝对温度有关,即实验环境的温度也是影响光阱刚度标定精度的因素之一。综上所述,在一定条件下对图像的处理方法是影响光阱刚度标定的一个重要因素之一,Hough 变换处理法是标定光阱刚度可选择的方法之一。

4 结 论

本文以一种不同的图像处理方法,Hough 变换法对光镊的光阱刚度进行标定,并基于均方位移的标定方法,对 Hough 变换处理法和 CCD 相关算法得到的光镊光阱刚度值进行了比较,实验结果表明两者的标定结果基本相同。同时,实验数据验证了 Hough 变化处理法标定光阱刚度的可行性,对图像的处理是影响光阱刚度标定的重要因素之一,其处理的精度直接影响光阱刚度的标定精度。所以,对图像的精确处理是提高光阱刚度准确性所必须考虑的因素,研究一些更为准确的图像处理算法有望进一步提高光阱刚度的标定精度。

参考文献:

[1] LI Yinmei, GONG Lei, LI Di, et al. Progress in optical tweezers technology[J]. China Journal of Lasers, 2015, 42(1): 101001. (in Chinese)
李银妹,龚雷,李迪,等. 光镊技术的研究现况[J]. 中国激光,2015,42(1):101001.

[2] GONG Zan. Development of nano optical tweezers system and measurement of small mechanical quantities[D]. Heifei: University of Science & Technology of China, 2007. (in Chinese)
龚鏨. 纳米光镊系统的研制及微小力学量的测量[D]. 合肥:中国科学技术大学,2007.

[3] GONG Zan, CHEN Hongtao, LI Yinmei, et al. Experimental study and comparison of four methods for measuring optical trap stiffness[J]. Journal of University of Science & Technology of China, 2005, 35(5): 601 – 607. (in Chinese)
龚鏨,陈洪涛,李银妹,等. 四种光阱刚度测量法的实验研究与比较[J]. 中国科学技术大学学报,2005,35(5):601 – 607.

[4] YIN Xiuxiu. Circle recognition based on the hough transform[D]. Suzhou: Suzhou University, 2016. (in Chinese)
尹秀秀. 基于霍夫变换的圆形识别[D]. 苏州:苏州大学,2016.

[5] Rafael C, Gonzalez Richard E, Woods Steven L Eddins. MATLAB implementation of digital image processing[M]. Beijing: Tsinghua University press, 2013: 381 – 382. (in Chinese)
Rafael C, Gonzalez Richard E, Woods Steven L Eddins. 数字图像处理的 MATLAB 实现[M]. 北京:清华大学出版社,2013:381 – 382.

[6] YUAN Li, CAO Zhirui. Improved randomized Hough transform algorithm for circle detection[J]. Journal of Computer Applications, 2010, 30(S1): 174 – 176. (in Chinese)
袁理,曹智睿. 改进的随机 Hough 变换圆检测算法[J]. 计算机应用,2010,30(S1):174 – 176.

[7] ZHANG Yuling, ZHOU Zhehai, ZHU Lianqing. Influence of laser power on stiffness calibration of optical tweezers[J]. Journal of Applied Optics, 2016, 37(6): 804 – 810. (in Chinese)
张玉灵,周哲海,祝连庆. 激光功率对光镊光阱刚度标定的影响[J]. 应用光学,2016,37(6):804 – 810.

[8] YANG Chunyan. A circle detection method based on the hough transform[J]. Journal of Baicheng Normal University, 2016, (2): 65 – 68. (in Chinese)
杨春岩. 一种基于霍夫变换的圆检测方法[J]. 白城师范学院学报,2016,(2):65 – 68.

[9] YANG Zhiming, ZHOU Qiguo. Pattern recognition based on the theory of Hough transform[J]. Journal of Chongqing Polytechnic College, 2002, 17(4): 16 – 17. (in Chinese)
杨治明,周齐国. 基于霍夫变换理论的图形识别[J]. 重庆科技学院学报:社会科学版,2002,17(4):16 – 17.

[10] ZHANG Huizhang, ZHANG Lixia, GUO Lei. Using the Hough transform to extract the target boundary[J]. Computer Applications, 2003, 23(z1): 117 – 119. (in Chinese)
张会章,张利霞,郭雷. 用霍夫变换来提取目标边界[J]. 计算机应用,2003,23(z1):117 – 119.

[11] YAO Jianquan, AN Yuan. The development and application of optical tweezers[J]. Journal of Optoelectronics La-

ser,2004,15(1):123 – 128. (in Chinese)
姚建铨,安源. 光镊技术的发展与应用[J]. 光电子·激光,2004,15(1):123 – 128.

[12] Block K C N S M. Optical trapping[J]. Review of Scientific Instruments,2004,75(9):2787 – 2809.

[13] PENG Fei. Theoretical study on optical trapping and application of optical tweezers[D]. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences,2010. (in Chinese)
彭飞. 光学捕获理论及光镊的应用研究[D]. 北京:中国科学院研究生院,2010.

[14] ZHU Guiying, ZHANG Ruilin. Circle detection using Hough transform[J]. Computer Engineering and Design, 2008,29(6):1462 – 1464. (in Chinese)
朱桂英,张瑞林. 基于 Hough 变换的圆检测方法[J]. 计算机工程与设计,2008,29(6):1462 – 1464.

[15] ZHANG Xiaoyan,WANG Xiaoqiang,BAI Fuzhong, et al. Improved gray centroid method for extracting the center-line of light – stripe[J]. Laser & Infrared,2016,46(5): 622 – 626. (in Chinese)
张小艳,王晓强,白福忠,等. 基于改进灰度重心法的光带中心提取算法[J]. 激光与红外,2016,46(5): 622 – 626.

[16] SHI Shaolong, YIN Dayi. Improved real-time grayscale centroid algorithm [J]. Opto-Electronic Engineering, 2013,(12):18 – 24. (in Chinese)
史少龙,尹达一. 改进型灰度质心实时算法研究[J]. 光电工程,2013,(12):18 – 24.

[17] WANG Xin,JING Jing,GE Qingping. Improved generalized Hough transform for the recognition of irregular objects[J]. Computer Engineering, 2007, 33 (8): 178 – 179. (in Chinese)
王鑫,荆晶,葛庆平. 检测不规则图形的改进广义 Hough 变换[J]. 计算机工程,2007,33(8):178 – 179.